

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

- LYON -

Année 1971 - N° 205

TITRE DE LA THESE

MODIFICATIONS SOUS L'INFLUENCE DE L'AZATHIOPRINE DE LA
TUMOROGENESE INDUITE CHEZ LE RAT SPRAGUE-DAWLEY PAR LE
7-12 DIMETHYLBENZ [A] ANTHRECENE

Travail du Laboratoire de Cancérologie Expérimentale

Centre Léon Bérard

THESE Presentee

à l'Université Claude Bernard - LYON

et soutenue Publiquement le 28 Octobre 1971

Pour obtenir le grade de docteur en médecine

Par

WEISSBROD Richard

Né le : 11 Aout 1943

A : Paris (xvi)

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées

Interne des Hopitaux de LYON

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

LYON

Année 1971 - N° 205

TITRE DE LA THESE

MODIFICATIONS SOUS L'INFLUENCE DE L'AZATHIOPRINE DE LA
TUMOROGENESE INDUITE CHEZ LE RAT SPRAGUE-DAWLEY PAR LE
7-12 DIMETHYLBENZ [A] ANTHRECENE

Travail du Laboratoire de Cancérologie Expérimentale

Centre Léon Bérard

THESE Presentee

à l'Université Claude Bernard LYON

et soutenue Publiquement le 28 *Octobre* 1971 :

Pour obtenir le grade de docteur en médecine

Par

WEISSBROD Richard

Né le : 11 Aout 1943

A : Paris (xvi)

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées

Interne des Hopitaux de LYON

UNIVERSITEIT VAN LEIDEN

LIBRARY

DEPARTMENT OF THE

LIBRARY OF THE

UNIVERSITY OF LEIDEN

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE



LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

LIBRARY OF THE

U N I V E R S I T E C L A U D E B E R N A R D

- Président de l'Université : J. BOIDIN
- Premier Vice-Président : R. TOURAINE
- Secrétaire Général : M. IZAUTE

Unités d'Enseignement et de Recherche de l'Université Médecine

- Grange Blanche - Directeur : Professeur GERMAIN D.
- Alexis Carrel - Directeur : Professeur GIROD C.
- Sud Ouest - Directeur : Professeur TOLOT L.F.
- Lyon Nord - Directeur : Professeur BERTOYE A.

Biologie Humaine - Directeur : Docteur CZYBA R.
(Maître de Conférences Agrégé)

Technique de Réadaptation - Directeur : Professeur MOUNIER KUHN P.

Sciences Pharmaceutiques - Directeur : M. CARRAZ M.
(Maître de Conférences Agrégé)

Sciences odontologiques - Directeur : Docteur R. VINCENT

Institut Régional d'Education Physique et Sportive - Directeur :
Professeur R. GUILLET

Mathématiques - Directeur : Doyen BRACONNIER

Physique - Directeur : Professeur DUPAY

Chimie et Biochimie - Directeur : Professeur GAUTHERON

Sciences de la Nature - Directeur : Professeur DAVID L.

Biodynamique et Psychopédagogie - Directeur : Professeur CHANEL J.

Institut Universitaire de Technologie n° 1 - Directeur :
Professeur FEUVRAIS L.

Institut Universitaire de Technologie n° 2 - Directeur :
Professeur GALLET, Directeur ENSAM

Observatoire - Directeur : Professeur BIGAY J.H.

Physique Nucléaire - Directeur : Professeur SARRAZIN A.

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD

U.E.R. LYON SUD-OUEST

*
* *

Liste du personnel enseignant à l'Unité

Professeurs titulaires, professeurs à titre personnel

M. BRUN Jacques	clinique pneumo-phtisiologique
M. GIRARD Paul	clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale
M. GUILLEMIN Georges	clinique chirurgicale
M. LATARJET Michel	clinique chirurgicale
M. NOTTER Armand	gynécologie obstétrique
M. PLAUCHU Marcel	endocrinologie et médecine interne
M. ROBERT Jacques	chaire de génétique médicale
M. TOLOT François	médecine interne - médecine du travail
M. VACHON Alphonse	clinique médicale - maladies app. digestif
M. VINCENT Daniel	chaire de biochimie appliquée

Professeurs sans chaire

M. COLOMB Daniel	dermatologie
M. MORET Robert	biophysique
M. NORMAND Jean	cardiologie
M. PINET Edouard	radiologie
M. VIALLIER-RAYNARD Jean	bactériologie - virologie



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD

U.E.R. LYON SUD-OUEST

*
* *

Maîtres de conférences agrégé

M. ARCHIMBAUD Jean-Pierre	Urologie
Mme BONNET Mireille	Ophtalmologie
MM. BOUVIER Maurice	Rhumatologie
BRAILLON Georges	Anatomie
BERTRAND Jean-Louis	Maladies infectieuses
CABANAC Michel	Physiologie
CROISILLE Marc	Radiologie
DUBOIS Paul	Histologie
GILLY Robert	Pédiatrie
HAGUENAUER Jean-Paul	O.R.L.
JEANNEROD Marc	Médecine expérimentale
JOUVENCEAUX André	Hémobiologie
LAIR Jacques	Stomatologie
LAPRAS Claude	Neuro-chirurgie
LEVRAT Roger	Médecine interne
LOMBARD-PLATET Roger	Sémiologie chirurgicale
LOUISOT Pierre	Biochimie
MICHEL Albert	Anesthésiologie
MOLLARD Pierre	Chirurgie infantile
PALIARD Pierre	Sémiologie médicale
PERRIN-FAYOLLE Max	Pneumo-phtisiologie
REBOUILLAT Jacques	Chirurgie générale
REVILLARD Jean-Pierre	Néphrologie
RIFFAT Georges	Hygiène
ROCHET Michel	Anatomie Pathologique
ROMAGNY Gabriel	Pédiatrie
SITE Jean	Mathématiques - statistiques - informatique
TERMET Hubert	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
TETE Roger	Médecine interne

A MON EPOUSE, A MA FILLE

A MES PARENTS ET BEAUX-PARENTS

Qu'ils veuillent trouver dans ce
travail la preuve de mon affection.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur M. DARGENT

Après un semestre d'externat au Centre Léon BERARD, il nous a permis de travailler au Laboratoire de Cancérologie Expérimentale. Durant plus de trois ans, il nous a constamment aidé et nous sommes fiers d'avoir su mériter sa confiance.

Il a inspiré ce travail, l'a suivi avec intérêt sans jamais cesser de nous encourager.

Qu'il soit notre président de thèse prend ainsi pour nous une valeur toute particulière et nous voudrions qu'il soit assuré de notre attachement respectueux et reconnaissant.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur J. BOURRET

Au cours d'un semestre d'internat, il nous a initié, avec bienveillance et simplicité, aux problèmes de la rééducation et de la réadaptation.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse et profonde gratitude.

Monsieur le Professeur Agrégé B. LAHNECHE

En acceptant de juger cette thèse, il efface pour nous l'amertume et le regret laissés par un travail inachevé et pourtant commencé avec lui.

Nous tenons à l'assurer de notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur Agrégé G. FAUCON

Il a accepté de juger ce travail.

Nous le remercions de l'honneur qu'il nous fait.

Monsieur le Docteur J.J. BOURGOIN

Comme un aîné, il a guidé nos premiers pas alors que nous étions un tout jeune externe. Depuis il nous a accordé une amitié efficace que des circonstances difficiles n'ont pas prise en défaut.

Ses conseils, son aide nous ont été précieux dans la réalisation de ce travail qui est aussi le sien.

Nous lui devons beaucoup, qu'il veuille trouver ici l'expression de notre infinie gratitude.

A la Ligue Nationale contre le Cancer
dont l'aide a permis l'accomplissement
de ce travail.

Au personnel, médecins, techniciennes et
secrétaire, du Laboratoire de Cancérologie
Expérimentale sans le concours duquel ce
travail n'aurait pu être mené à bien.

A Monsieur le Médecin Général MARTIN-SIBILLE

Ophtalmologiste des Hôpitaux des Armées
Directeur de l'Ecole du Service de Santé des Armées
et de l'Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes

I N T R O D U C T I O N

" Les principes de l'expérimentation... sont incomparablement plus difficiles à appliquer à la médecine et aux phénomènes des corps vivants qu'à la physique et aux phénomènes des corps bruts... L'expérimentation est incontestablement plus difficile en médecine que dans aucune autre science ; mais par cela même, elle ne fut jamais dans aucune plus nécessaire et plus indispensable". Ces lignes, tirées de "l'introduction à l'étude de la médecine expérimentale" de Claude BERNARD, rappellent la nécessité de l'expérience, mais surtout attirent l'attention sur la complexité des faits biologiques. Cette difficulté impose la rigueur dans leur observation et la prudence dans leur interprétation. C'est avec cette arrière-pensée que nous avons essayé de conduire notre travail. Il s'inscrivait dans une étude entreprise depuis plus de deux ans au Laboratoire de Cancérologie Expérimentale du Centre Léon BERARD ; nous en donnerons un rapide aperçu pour éclairer les raisons du choix de notre sujet.

Une première expérimentation (13) avait tenté de préciser l'influence de l'exérèse systématique de tumeurs mammaires sur leur diffusion. Elle voulait également rechercher le rôle "d'appel" éventuellement joué par les tissus scléreux dans l'apparition des métastases. Ce travail utilisait un système d'induction chimique chez le rat femelle Sprague-Dawley. Dans les conditions de cette étude, aucune métastase n'est apparue au niveau de cicatrices volontairement réalisées.

Dans une deuxième expérimentation, nous avons testé le rôle d'une immuno-dépression par l'Azathioprine (ou IMUREL - Laboratoire WELLCOME) dans le même système. Il n'a pas non plus été trouvé de métastases. Par contre des modifications de la tumorigénèse se sont manifestées.

Le but du travail que nous présentons, a donc été de contrôler le rôle joué par l'Azathioprine dans la tumorigénèse induite par un carcinogène chimique.

C H A P I T R E I

HISTORIQUE

Les observations concernant les tumeurs induites sont très nombreuses, parfois fort anciennes. Aussi dans ce bref paragraphe, nous contenterons-nous de rappeler les principaux repères chronologiques, sans vouloir être complet.

Concernant les agents physiques :

- FINDLEY en 1926 et ROSSO en 1933 montrent l'action des ultra-violets qu'avait déjà suspecté SHEILD en 1829,
- CLUNET en 1920 apporte la preuve de la nocivité des Rayons X que FRIEBEN en 1902 avait déjà signalé chez l'homme,
- PARACELSE en 1516 décrit le mystérieux "Mal des Métaux" qu'il ne pouvait évidemment rapporter à la radio-activité de l'uranium et du radium.

Concernant les virus :

- ELLERMAN et BANG en 1908 prouvent l'intervention d'un virus dans les leucoses aviaires,
- ROUS en 1910 fait de même pour le sarcome de la poule,

- SHOPE en 1932 met en évidence l'action d'un agent viral dans l'apparition du papillome du lapin,
- il faudrait encore citer bien d'autres travaux : ceux de BITTNER sur les tumeurs mammaires de la souris, ceux de GROSS sur les leucémies murines par exemple.

Concernant les agents chimiques :

- LACASSAGNE en 1932 montre le rôle des oestrogènes dans l'induction des cancers mammaires de la souris,
- en réalité l'action carcinogène des substances chimiques, en particulier des dérivés de la houille, est connue bien avant cette date. En effet dès 1775, Sir Perceval POTT décrit le cancer des ramoneurs par contact répété avec la suie. En 1915, YAMAGIWA et ICHIKAWA fournissent la preuve expérimentale du rôle carcinogène du goudron. KENNAWAY et LOOK (1929 - 1935) montrent que les fractions actives de ce produit possèdent un spectre de fluorescence en ultra-violet avec trois bandes caractéristiques. Elles correspondent à des dérivés de l'anthracène : dibenzanthracène, benzopyrène, méthylcholanthrène ou MCA. Signalons que parmi les molécules de la série du dibenzanthracène, HUGGINS (31) dès 1961 utilise le 7-12-diméthylbenz (A) anthracène ou DMBA pour induire des cancers mammaires chez le rat femelle Sprague-Dawley,
- enfin à propos des autres substances chimiques, citons les travaux de REHN (1895) sur les amines aromatiques,
- au total, on distingue actuellement trois grands groupes de substances chimiques carcinogènes :

- 1.- Des hydrocarbures polycycliques aromatiques tirés pour la plupart du goudron, des huiles, de schiste, de la suie. Les recherches ont ajouté d'autres corps comme les hydrocarbures chlorés, les dérivés du stilbène et même les matières plastiques.
- 2.- Des dérivés organiques azotés :
 - . benzacridines, benzidines, éléments constituant des colorants artificiels ;
 - . acétylaminofluorène, éléments constituant de certains insecticides, par exemple ;
 - . dérivés azoïques comme le P.-diméthylaminoazobenzène, colorants alimentaires connus sous le nom de jaune de beurre. Les moutardes azotées et l'uréthane ont également une action cancérigène.
- 3.- Les métaux ou métalloïdes au premier rang desquels figurent l'arsenic, le beryllium, le zinc, l'amiante, le chrome. (selon M. DARGENT)

*
* *

Au début du siècle, on a tenté d'étudier immunologiquement les tumeurs. Mais bien vite on s'est aperçu que lorsque l'on pensait étudier le rejet d'une greffe tumorale, c'était en fait un rejet d'organe que l'on constatait : on n'avait pu dissocier du grand groupe des tentatives de greffe celles qui concernaient les tumeurs malignes.

Pour pouvoir évoluer à nouveau dans ce domaine, il faudra attendre le développement de l'étude de l'immunité de greffe qui, vers 1960 aboutissait chez l'homme aux possibilités de transplantation rénale.

Toutefois entre 1920 et 1960, un certain nombre de travaux clefs seront réalisés. Ils ont tous concourru au concept actuel de l'immunologie des tumeurs :

- En 1943, GROSS réussit l'immunisation par voie intra-dermique des souris contre des tumeurs induites par le MCA.
- En 1953, FOLEY démontre les propriétés antigéniques des tumeurs induites par le même produit.
- En 1960, KLEIN (39) étudie les lymphocytes et la résistance de l'hôte vis-à-vis d'une transplantation de sarcome induit par la même substance.

Ces antigènes de transplantation spécifiques de tumeur (Tumor Specific Transplantation Antigen ou TSTA) se retrouvent sur la membrane cellulaire des tumeurs. Ces antigènes sont spécifiques de tumeur à tumeur, pour celle induite chimiquement. En ce qui concerne les cancers induits par virus, les travaux de l'équipe de KLEIN (38) permettent de montrer que les antigènes de membrane de type transplantation sont croisés. Pour les tumeurs induites par les virus à DNA (PA.PO.VA. et Adénovirus) ces antigènes sont communs à toutes les tumeurs induites par le même virus. Pour les tumeurs induites par les virus à RNA (virus des leucémies ou des sarcomes aviaires et murins, virus des tumeurs mammaires : virus de BITTNER) ces antigènes sont communs aux cellules transformées par le virus.

A côté de ce système d'antigènes de membrane, on décrit des antigènes cytoplasmiques de type différent et que l'on appelle néo-antigènes. Quel que soit le mode d'induction, ces néo-antigènes semblent spécifiés par la cellule transformée. Ils sont volontiers croisés et c'est dans ce groupe que sont décrits la plupart des antigènes embryonnaires.

Actuellement BALDWIN (6) ayant travaillé sur des hépatomes et des sarcomes chimio-induits a pu mettre en évidence outre les antigènes précédemment cités quelques antigènes croisés sur la membrane. Ce concept, qui semble s'opposer à la grande notion de KLEIN selon laquelle les TSTA ne se retrouvent dans ce système que de façon purement autologue, ne doit pas éliminer la notion de base que pour les tumeurs induites par les carcinogènes chimiques, il existe une spécificité antigénique de tumeur à tumeur même sur un même animal, même avec un même carcinogène. D'ailleurs BALDWIN a pu préciser par absorptions successives que les antigènes croisés qu'il a retrouvé étaient de nature embryonnaire et non pas spécifiques de tumeur.

A la notion stricte d'antigènes de transplantation spécifiques de tumeur, un certain nombre de travaux récents menés par KLEIN lui-même à Stockholm mais aussi par PARDOE à Birmingham sur les membranes cellulaires amènent à substituer la notion plus large d'antigènes de transplantation associés aux tumeurs (Tumor Associated Transplantation Antigen ou T.A.T.A.). Il semble en effet très difficile d'assurer la spécificité tumorale des antigènes considérés.

L'étude de l'immuno-dépression dans la survenue des tumeurs malignes est récente.

A notre connaissance, il existe peu de travaux étudiant cette question dans le cadre des tumeurs spontanées chez l'animal. BURSTEIN a montré que le sérum antilymphocytaire ou SAL raccourcit la période de latence des néoplasmes réticulaires qui sont fréquents dans certaines races de souris.

Chez l'homme, au contraire, nous possédons quelques éléments concernant la survenue de tumeurs malignes chez des malades soumis à un traitement immuno-dépresseur. PEN (69) rapporte trois de ces observations sans donner d'informations supplémentaires. Par contre, MATHE (44) relève à propos de 2000 transplantations d'organes, treize cas de tumeurs malignes. Il faut noter que six de ces tumeurs provenaient du donneur et avaient été transplantés avec l'organe. Le "risque" réel est donc diminué d'autant : sept cas de cancers non transplantés sur 2000 patients soumis à un traitement immuno-dépresseur, soit un chiffre de 0,35 %. Ce pourcentage n'est pas supérieur au risque habituellement admis de voir se développer un néoplasme dans une population donnée.

Les travaux portant sur l'action d'une immuno-dépression dans la cancérogénèse expérimentale apportent plus de données.

Les tumeurs induites par des virus oncogènes, comme le montrent les travaux de VANDEPUTTE ou ceux de BURSTEIN, se développent mieux sous SAL. En réalité, il s'agit presque toujours chez les rongeurs de sérum antithymocytaire ou SAT.

Il est en effet plus difficile de préparer un véritable SAL qui nécessite l'utilisation de lymphocytes "périphériques" (ganglions, drainage de canal thoracique, etc...). On sait aussi que l'irradiation totale favorise l'apparition de leucémies virales. Enfin AMIEL et ses collaborateurs étudient actuellement l'action de la Méthylhydrazine ou Procarbazine (NATULAN* - Laboratoire ROCHE) dans un système analogue.

L'immuno-dépression des tumeurs chimio-induites à été, à ce jour, peu étudiée.

Selon certains auteurs, comme RABBAT, le SAL ou le SAT donné simultanément au carcinogène favorise le développement tumoral. Pour d'autres, comme WYLIE (70), le SAL ne modifie pratiquement pas la tumorigénèse chez le rat. De même, WAGNER (64) constate une action discrète sinon nulle du SAL sur le nombre ou le délai d'apparition des tumeurs induites chez la souris par le MCA.

Nous n'avons pas été les seuls à étudier le rôle de l'Azathioprine dans la tumorigénèse expérimentale. Ainsi NAMOTO (47) a montré sur des souris porteuses de tumeurs cutanées induites par le MCA ou de tumeurs solides d'EHRLICH, que le traitement par l'Azathioprine ne modifiait pas le développement des tumeurs si l'immuno-dépresseur est administré au moment de l'apparition de la première. Mais il est à noter que ces expérimentations n'étaient faites que sur des délais de 7 à 15 jours. Si l'Azathioprine est donnée avant le carcinogène les tumeurs induites ont plus souvent un caractère malin que dans le groupe traité par le MCA seul (39 % contre 18 %).

Pour les tumeurs solides d'EHRlich, il constate qu'au bout de 14 jours le poids des tumeurs des animaux traités est 1,5 fois supérieur à celui des tumeurs des animaux témoins.

Il faut encore ajouter que d'une façon générale, tous les agents carcinogènes sont doués de propriétés immuno-dépressives. Les travaux de STJERNSWÄRD ont mis en évidence cet effet immuno-dépresseur des hydrocarbures pendant la phase de latence des tumeurs. Les virus oncogènes semblent aussi capables d'avoir une telle action (44).

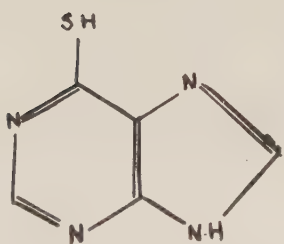
C H A P I T R E I I

MATERIEL ET METHODES

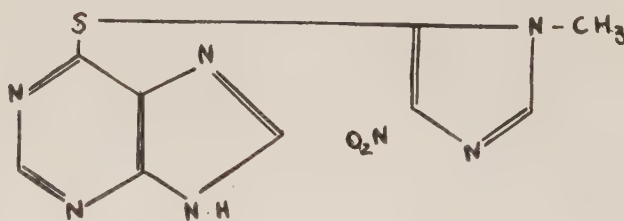
I - MATERIEL

1.- L'Azathioprine

L'Azathioprine est la (Méthyl-1 nitro 4 imidazoly1-5 thio) 6-purine, c'est-à-dire un dérivé hétérocyclique de la 6-mercaptopurine, dans laquelle un noyau imidazol substitué prend la place du groupe sulphydrile.



6-mercaptopurine



Azathioprine

C'est un agent cytotoxique dont les actions pharmacologiques sont qualitativement celles de la 6-mercaptopurine ou 6-M.P., avec un effet immuno-dépresseur plus marqué mais une action chimiothérapique moindre.

Son métabolisme est proche de cette dernière.

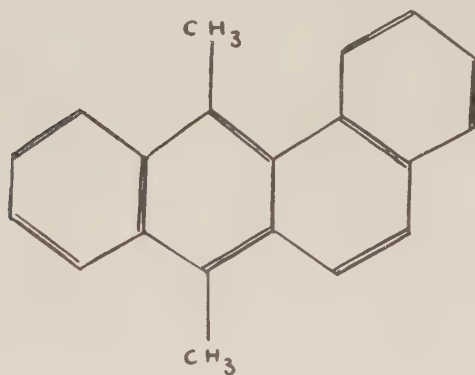
La DL 50 est chez le rat est de 310 mg/kg par voie intra-péritonéale et de 400 mg/kg par voie orale, la mort se produisant vers le 5ème ou 6ème jour.

Il est responsable de nombreuses malformations foetales.

Il est utilisé comme antimitotiques dans les leucémies (MATHE) mais surtout comme immuno-dépresseur : transplantation d'organes et maladies auto-immunes.

2.- Le DMBA

Le 7-12-Diméthyl-benz (A) anthracène, $C_{20}H_{16}$ de poids moléculaire 256,35, autrefois appelé 9,10 Diméthyl-1,2-benzanthracène répond à la formule développée suivante :



3.- Les animaux

Nous avons utilisé 120 rats femelles Sprague-Dawley, âgés de 2 mois, provenant de l'élevage maintenu dans le Laboratoire de Cancérologie Expérimentale du Centre Léon BERARD et primitivement issu du Centre d'Elevage et de Sélection des Animaux de Laboratoire du C.N.R.S. Ces rats ont été répartis dans des cages de MACROLON*, ils ont été nourris par biscuits (UAR) et abreuvés par biberon.

II - METHODES

La répartition en six groupes s'est faite par randomisation à l'aide de tables de permutation et nous leur donnerons un numéro afin d'éviter les redites systématiques.

Le groupe n° 1 (rats n° 1 à 20) a reçu deux fois par semaine, par sonde gastrique, 0,05 mg d'Azathioprine en suspension dans 1 ml d'huile d'amande douce. Dix jours après le début de ce traitement, ces animaux ont reçu par la même voie d'administration une dose unique de 15 mg de DMBA en suspension dans 1 ml d'huile d'amande douce.

Le groupe n° 2 (rats n° 21 à 40) n'a reçu que le DMBA, dans les mêmes conditions que le groupe précédent et sans adjonction d'Azathioprine.

Le groupe n° 3 (rats n° 41 à 60) a reçu simultanément l'Azathioprine et le DMBA aux mêmes doses que le groupe 1.

Le groupe n° 4 (rats n° 61 à 80) a reçu initialement une dose de DMBA puis, à partir de l'apparition de la première tumeur palpable, de l'Azathioprine de façon identique à celle des groupes 1 et 3.

Le groupe n° 5, de contrôle (rats n° 81 à 100) n'a reçu que l'Azathioprine, dans les mêmes conditions que les groupes 1, 3 et 4 et sans adjonction de DMBA.

Le groupe n° 6, également de contrôle, (rats n° 101 à 120) n'a reçu aucun traitement.

La dose de 0,05 mg d'Azathioprine a été établie lors d'une expérimentation précédente comme étant la dose minimale permettant une immuno-dépression suffisante pour assurer la survie, 25 jours durant, d'un greffon hétérologue de peau de queue de rat (rat Wistar X rat Sprague-Dawley).

Pendant la durée de l'expérimentation, tous les animaux ont été régulièrement palpés une fois par semaine de façon à noter l'apparition et l'évolution des tumeurs.

300 jours après l'ingestion de DMBA, les rats survivants ont été sacrifiés. Ce délai a été établi au cours d'une expérimentation précédente (13) qui a montré que la moyenne de survie des rats évoluant spontanément est de 275 jours.

Une autopsie systématique a permis le prélèvement des tumeurs et d'un certain nombre d'organes : thymus, poumons, myocarde, foie, rate, ganglions, ovaires, reins, surrénales. Les fragments ont été fixés dans du liquide de BOUIN, colorés à l'H.P.S. Certains ont nécessité des techniques spéciales : réticuline essentiellement.

Nos résultats ont tous été traités sur PROGRAMMA 101 (OLIVETTI). Dans les tables bis, la comparaison entre les groupes a été notée respectivement S et NS pour l'existence ou non d'une différence significative à 5 % selon le test de STUDENT.

Les groupes 5 et 6, ne recevant pas de DMBA, ont été considérés comme des groupes témoins, les données les concernant ne seront précisées qu'en cas de nécessité.

C H A P I T R E I I I

RESULTATS

I - LES TUMEURS MAMMAIRES

1.- Le nombre de tumeurs

Le tableau n° 1 montre le nombre moyen de tumeurs porté par animal et les limites de variation :

	NOMBRE MOYEN PAR ANIMAL	LIMITES DE VARIATION
GROUPE I	3	1 - 9
GROUPE II	5	2 - 11
GROUPE III	3	1 - 10
GROUPE IV	6	2 - 13

TABLEAU N° 1 - Nombre de tumeurs mammaires

GROUPES	I	II	III
II	S		
III	NS	S	
IV	S	NS	S

TABEAU N° 1 bis

Comparaison des groupes à l'aide
du test de STUDENT au risque de 5 %

On peut constater par rapport aux animaux recevant le DMBA seul que les groupes 1 et 3 ont vu se développer un plus petit nombre de tumeurs, s'opposant au groupe 4 qui en présente davantage. Dans le groupe 5, nous avons noté que deux rats étaient porteurs d'une tumeur et trois dans le groupe 6.

2.- Date d'apparition de la 1ère tumeur

Le tableau n° 2 montre la date moyenne d'apparition de la première tumeur :

	DATE MOYENNE D'APPARITION DE LA PREMIER TUMEUR (à partir de l'administra- tion du DMBA)
GRUPE I	197ème jour
GRUPE II	75ème jour
GRUPE III	135ème jour
GRUPE IV	82ème jour
GRUPE V (date pour chaque tumeur)	164ème et 283ème jour respectivement
GRUPE VI (date pour chaque tumeur)	263ème, 280ème et 290ème jour respectivement

TABLEAU 2 - Date moyenne d'apparition de la 1ère tumeur

GROUPES	I	II	III
II	S		
III	NS*	S	
IV	S	NS	S

TABLEAU N° 2 bis -

Comparaison des groupes à l'aide du
test de STUDENT

* à la limite de la signification pour le
risque de 5 %

Dans le groupe 2, tous les animaux avaient au moins une tumeur au 180ème jour, par contre pour les groupes 1 et 3 plusieurs rats n'ont vu se développer leur première tumeur qu'au delà de cette date. En comparant les valeurs trouvées, on peut constater qu'il existe une différence non significative entre les groupes 2 et 4 (75 et 82 jours). Par contre, il existe une différence plus grande entre les groupes 1 et 3 (197 et 135 jours) mais à la limite de la signification pour le risque choisi. Pour le reste, une différence significative existe entre les groupes 1 et 2, 1 et 4, 2 et 3, 3 et 4.

3.- Date d'apparition des autres tumeurs

La date moyenne d'apparition des deuxième et troisième tumeurs est donnée par les tableaux n° 3 et 4.

	DATE MOYENNE D'APPARITION DE LA SECONDE TUMEUR
GROUPE I	215ème jour
GROUPE II	111ème jour
GROUPE III	179ème jour
GROUPE IV	128ème jour

TABLEAU N° 3 - Date moyenne d'apparition de la
seconde tumeur

GROUPES	I	II	III
II	S		
III	NS	S	
IV	S	NS	S

TABLEAU N° 3 bis
Comparaison des groupes à l'aide
du test de STUDENT

	DATE MOYENNE D'APPARITION DE LA TROISIEME TUMEUR
GROUPE I	247ème jour
GROUPE II	132ème jour
GROUPE III	202ème jour
GROUPE IV	146ème jour

TABLEAU N° 4 - Date moyenne d'apparition de la
troisième tumeur

GROUPE	I	II	III
II	S		
III	NS	S	
IV	S	NS	S

TABLEAU N° 4 bis

Comparaison des groupes à l'aide
du test de STUDENT

La comparaison des chiffres donnés montre que les différences significatives sont identiques à celles relevées pour la première tumeur. Par contre, ici également les délais d'apparition importants pour les groupes 1 et 3 ne sont pas non plus significativement différents.

Très peu d'animaux du groupe 1 ont présenté plus de trois tumeurs. Aussi est-il difficile de comparer de façon valable ce groupe aux autres.

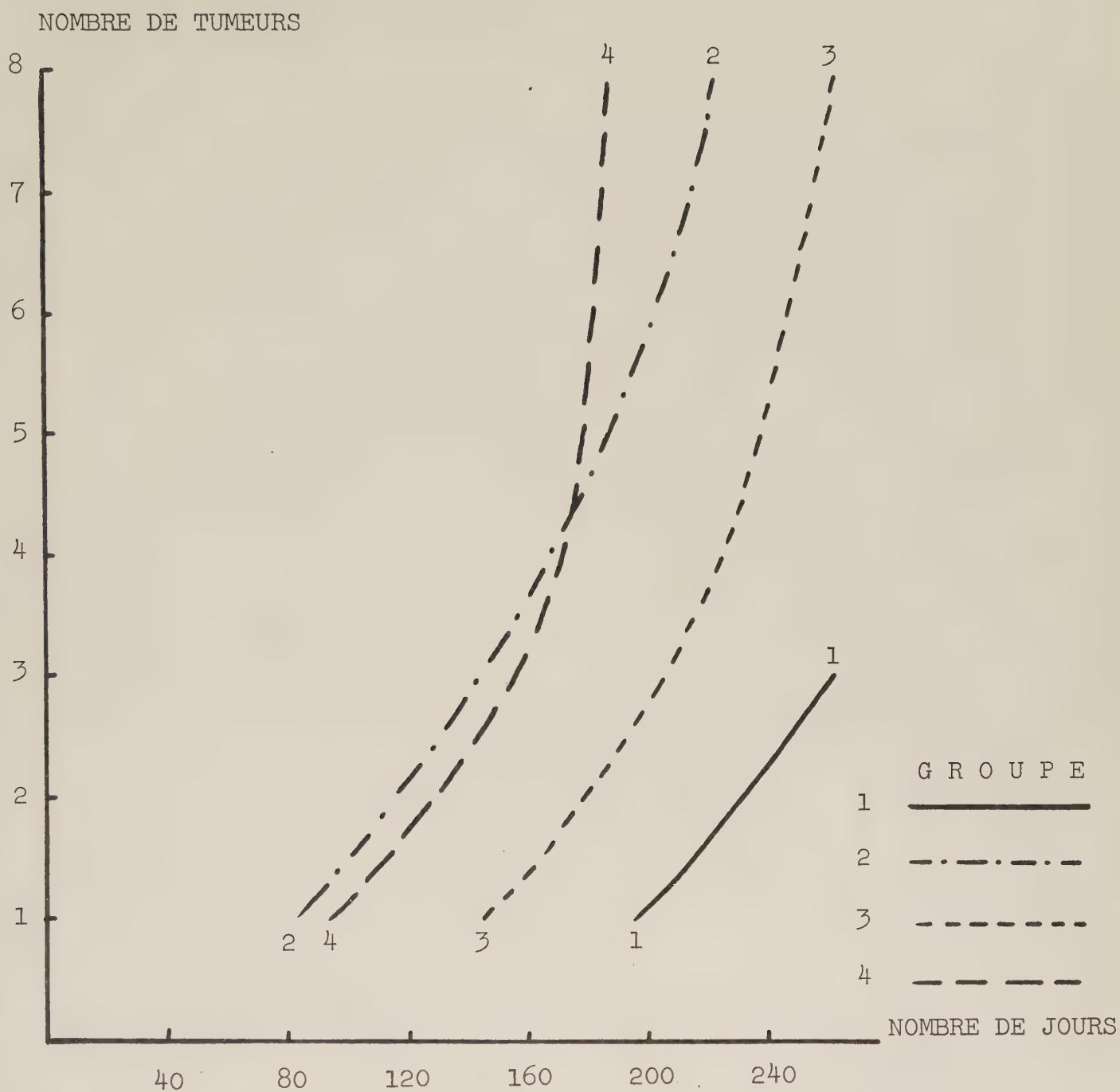


FIGURE N° 1

DATE D'APPARITION DES PREMIERES TUMEURS DANS CHAQUE GROUPE
(exceptions faites des deux groupes de contrôle)

La figure n° 1 précise la date moyenne d'apparition des huit premières tumeurs des groupes 2, 3 et 4. On peut constater que l'allure des courbes 2 et 3 est similaire bien que cette dernière soit régulièrement retardée par rapport à la précédente. Par contre, la courbe 4, qui débute au même point que celle du groupe 2, lui est comparable jusqu'à la survenue de la 4ème tumeur ; il semble qu'une accélération du processus de la tumogénèse apparaisse alors, comme le manifeste la brusque inflexion de cette courbe.

4.- Résultats histologiques

a) Les tumeurs

Les résultats histologiques sont consignés dans le tableau n° 5. 287 prélèvements ont pu avoir une interprétation anatomo-pathologique. En effet, dix fois les tumeurs ont été nécrotiques et n'ont pu être examinées. Dans d'autres cas, les tumeurs ont fusionné pour former un bloc indissociable.

De ces 287 examens anatomo-pathologiques, 39 proviennent du groupe 1, 87 du groupe 2, 63 du groupe 3 et 98 du groupe 4. Seuls 15 rats du groupe 1 ont pu être vérifiés sur le plan histopathologique. En effet, deux animaux n'avaient pas de tumeurs au moment du sacrifice au 300ème jour, deux autres avaient des tumeurs nécrotiques, enfin un était porteur de fibro-sarcomes. Pour chacun des autres groupes l'examen porte sur l'ensemble des animaux. Les deux séries témoins ont présenté cinq tumeurs au total : 2 dans le groupe 5 et 3 dans le groupe 6.

H I S T O L O G I E		G R O U P E S					
		I	II	III	IV	V	VI
TUMEURS MALIGNES	{ Adéno-carcinomes	7	23	4	29	1	0
	{ Carcinomes indifférenciés	0	10	0	6	0	0
TUMEURS D'EXPRESSION HISTOLOGIQUE AMBIGUE .		2	19	8	7	0	0
TUMEURS BENIGNES	{ Adénomes	19	14	16	16	0	2
	{ Fibro-adénomes	8	16	27	34	1	1
	{ Fibromes	3	5	8	6	0	0
T O T A L		39	87	63	98	2	3

TABLEAU N° 5 - ASPECTS HISTOLOGIQUES DES TUMEURS MAMMAIRES

MACROSCOPIQUEMENT :

Le nombre et la taille des tumeurs sont très variables : de 1 à 13 pour le premier, de quelques mm (moins de un gramme) à plus de 10 cm (plus de 150 gr) pour la seconde.

L'évolution se fait habituellement vers l'augmentation de volume et l'ulcération à la peau.

Elles sont, en général, bien encapsulées n'adhérant ni aux plans profonds, ni aux plans superficiels. Elles sont volontiers polylobées.

A la coupe, certaines sont fermes, élastiques, blanchâtres, d'allure rassurante. D'autres sont polychromes, hémorragiques et nécrotiques, surinfectées, difficiles à classer, d'autant que la juxtaposition de lobules d'allures différentes n'est pas rare et pas toujours le résultat de la confluence de deux tumeurs voisines. D'autres, enfin, revêtent l'aspect typique de certains cancers humains (chair de poire).

MICROSCOPIQUEMENT :

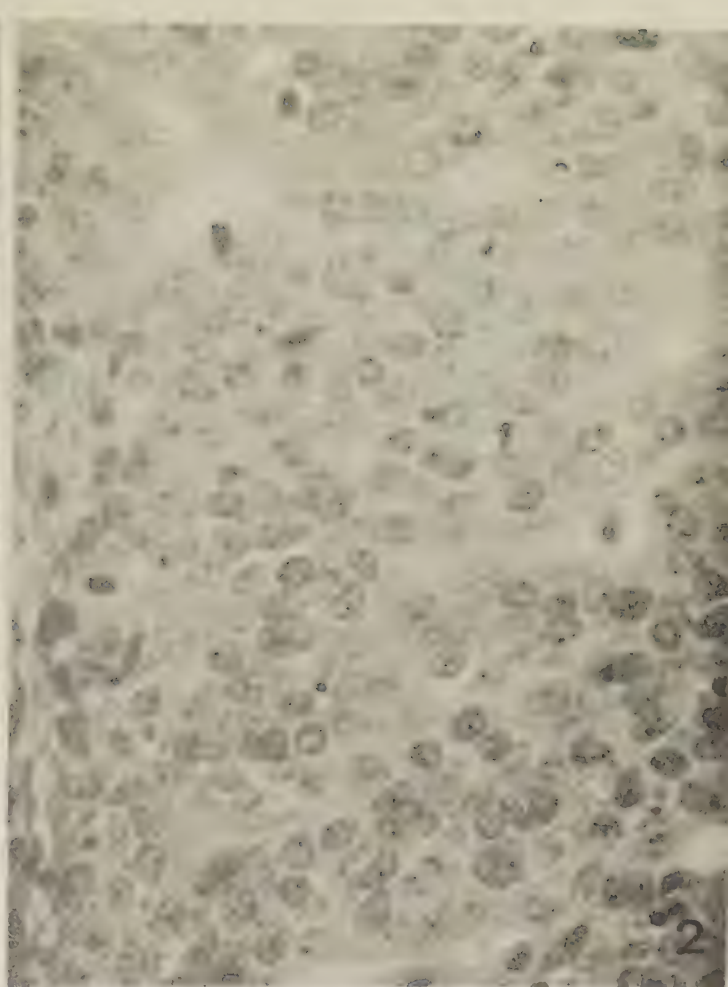
les tumeurs peuvent se classer en trois grands groupes :

- les tumeurs franchement malignes,
- les tumeurs franchement bénignes,
- les tumeurs suspectes dites "d'expression histologique ambiguë".

- 1 - Les tumeurs malignes (TM), photographies n° 1 et n° 2, sont reconnues par l'aspect architectural avec formations poly-adénomateuses, massifs pleins ou, au contraire, cellules isolées et par la présence de métastases, beaucoup plus que par les mitoses qui sont rares, les anomalies nucléaires et les monstruosité qui sont pratiquement absentes. Ce sont des adéno-carcinomes et des carcinomes anaplasiques.

- 2 - Les tumeurs bénignes (TB), photographie n° 3, peuvent se classer en trois catégories par analogie aux tumeurs humaines. Les fibro-adénomes tubuleux avec leur double contingent : prolifération épithéliale faite de tubes ramifiés à l'infini, prolifération conjonctive qui les accompagne et produit autour d'eux une gaine ordinairement épaisse. Lorsque le conjonctif est réduit et que les tubes restent voisins les uns des autres pour former une nappe glandulaire, on parle d'adéno-fibrome. Les fibromes purs sont rares. Les adénomes ont des éléments glandulaires réguliers avec faible interposition de stroma conjonctif entre les tubes. Certains adénomes sont sécrétants.

- 3 - Les tumeurs "d'expression histologique ambiguë", photographie n° 4, sont celles où l'anatomo-pathologiste est incapable de trancher sur la nature exacte de la lésion. Dans une tumeur, nous avons pu mettre en évidence, étroitement imbriquées, des plages adénomateuses et fibromateuses ; plus loin le tissu conjonctif s'éclaircit et laisse des acini éparpillés devenir le siège d'une dilatation kystique, tandis que les franges papillaires exophytiques comblent la lumière ; une de ces formations kystiques présente une double polarité exophytique et endophytique avec rupture de la basale. Au sein de cette tumeur bénigne, aux variations morphologiques multiples, apparaît une zone qui correspond peut être à un moment de la transformation maligne. Dans le même ordre d'idées, on peut suivre de façon très précise l'évolution qui mène de la dilatation acineuse à la pluristratification et au comblement total de la lumière, qui rappelle la structure comédo-carcinomateuse bien classique en pathologie humaine et qui répond déjà à un carcinome intra-ductal. Dans un autre cas, nous avons pu retrouver des zones adénomateuses d'une activité intense où "l'enveloppe conjonctive paraît impuissante à contenir la prolifération épithéliale". C'est ici que



les colorations de la réticuline mettent en évidence un aspect feuilleté de la basale, à travers laquelle se glissent des acini qui se retrouvent dans le tissu conjonctif voisin.

Le nombre moyen de tumeurs malignes porté par animal est donné par le tableau n° 6 :

	NOMBRE MOYEN DE TUMEURS MALIGNES PAR RAT
GROUPE I	0,6
GROUPE II	1,7
GROUPE III	0,3
GROUPE IV	1,9

TABLEAU N° 6 - NOMBRE MOYEN DE TUMEURS MALIGNES PAR RAT

GROUPES	I	II	III
II	S		
III	NS	S	
IV	S	NS	S

TABLEAU N° 6 bis

Comparaison des groupes à l'aide
du test de STUDENT

Le nombre moyen de tumeurs bénignes porté par animal est donné par le tableau n° 7 :

	NOMBRE MOYEN DE TUMEURS BENIGNES PAR RAT
GROUPE I	2,3
GROUPE II	2,1
GROUPE III	2,4
GROUPE IV	2,6

TABLEAU N° 7 - NOMBRE MOYEN DE TUMEURS BENIGNES PAR RAT

GROUPES	I	II	III
II	NS		
III	NS	NS	
IV	NS	NS	NS

TABLEAU N° 7 bis

Comparaison des groupes à l'aide du
test de STUDENT

Le nombre moyen de tumeurs bénignes porté par animal est pratiquement constant pour les quatre premiers groupes avec un nombre global moyen de 2,35.

On peut remarquer la faible différence qui existe pour le rapport du nombre de tumeurs malignes au nombre total de tumeurs entre les groupes 2 et 4, tandis que ces groupes diffèrent notablement en ce qui concerne le rapport du nombre de tumeurs bénignes sur le nombre total de tumeurs. Pour les groupes 1 et 3, on peut constater la proportion importante du nombre de tumeurs bénignes par rapport au nombre total de tumeurs.

Pour notre étude, nous avons décidé à l'exemple de la plupart des auteurs, de considérer les tumeurs "d'expression histologique ambiguë" comme des tumeurs malignes.

Le tableau n° 8 montre que la majorité des animaux des groupes 1, 2 et 4 porte simultanément des tumeurs malignes et des tumeurs bénignes. Il existe toutefois une différence importante entre le groupe soumis au DMBA seul (gr. 2) et les deux autres (gr. 1 et 4) : presque tous les animaux (90 %) du groupe 2 portent simultanément les deux types de tumeurs contre 45 % et 70 % pour les groupes 1 et 4. Par contre, la majorité des animaux du groupe 3 (85 %) ne porte que des tumeurs bénignes. Le groupe 4 diffère des trois autres par le fait qu'il est le seul à présenter quatre animaux porteurs exclusivement de tumeurs malignes.

	GROUPES			
	I	II	III	IV
NOMBRE DE PORTEURS DE TM SEULES	0	0	0	4
NOMBRE DE PORTEURS DE TB SEULES	6	2	17	2
NOMBRE DE PORTEURS DES DEUX	9	18	3	14
NOMBRE DE PORTEURS DE METASTASES PULMONAIRES	0	4	2	3

TABLEAU N° 8 - NOMBRE D'ANIMAUX PORTEURS DE TUMEURS MALIGNES, DE TUMEURS BENIGNES OU DES DEUX, DE METASTASES

b) Les métastases

Le tableau précédent (n° 8) montre la fréquence des métastases pulmonaires observées dans chaque groupe. Aucune n'a été noté dans le groupe 1, par contre, nous en avons relevé chez quatre animaux du groupe 2 (soit 20 %), chez deux animaux du groupe 3 (soit 10 %) et chez trois animaux du groupe 4 (soit 15 %). Si ce nombre est rapporté au nombre d'animaux porteurs de tumeurs malignes dans chaque groupe, nous trouvons une fréquence similaire dans les groupes 2 et 4 (4/18 et 3/18). Toutefois dans le groupe 3, il faut noter l'existence de deux animaux porteurs de métastases pour trois rats porteurs de tumeurs malignes.

MACROSCOPIQUEMENT :

elles peuvent être uniques ou plus souvent multiples et se présentent comme des masses arrondies pouvant atteindre 5 mm de diamètre.

MICROSCOPIQUEMENT :

elles répondent au type adéno-carcinome et apparaissent comme une plage enchassée dans le parenchyme pulmonaire qui réagit en faisant une sorte de coque par tassement des alvéoles en périphérie de la métastase. La limite entre les deux tissus apparaît ainsi nettement et circulaire. Ces métastases sont assez souvent nécrotiques.

Nous n'avons pas fait mention de localisations secondaires ganglionnaires, sans doute parceque les ganglions de petite taille et difficile à trouver ne peuvent être prélevés de façon systématique.

II - LES TUMEURS NON MAMMAIRES

Il est intéressant de noter la grande fréquence de carcinogènes malpighiens différenciés kératinisants (ou CMDK) développés aux dépens de la glande de Zymball de type sudoripare. Ces localisations peuvent être uni ou bilatérales chez un même animal. Les animaux qui ont reçu de l'Azathioprine ont développé ces tumeurs de façon significativement plus élevée par rapport à ceux qui n'ont reçu que du DMBA (tableau n° 9).

	NOMBRE DE CARCINOMES	POURCENTAGE D'ANIMAUX
GROUPE I	11	55
GROUPE II	2	10
GROUPE III	8	40
GROUPE IV	9	45

TABLEAU N° 9 - FREQUENCE DES CARCINOMES MALPIGHIENS
DIFFERENCIES KERATINISANT DE LA GLANDE DE ZYMBALL

GROUPES	I	II	III
II	S		
III	NS	S	
IV	NS	S	NS

TABLEAU N° 9 bis

Comparaison des groupes à l'aide
du test de STUDENT

Un rat du groupe I a vu apparaitre dans les premiers jours de l'expérimentation trois tumeurs. Il est mort au 178ème jour et l'histologie a montré qu'il s'agissait de fibro-sarcomes. Il n'a pas été tenu compte de cet animal dans l'établissement des résultats de l'expérimentation.

C H A P I T R E I V

DISCUSSION

Nous ferons porter notre discussion sur les modifications provoquées par l'Azathioprine, d'une part sur les aspects histologiques et d'autre part sur la dynamique tumorale.

I - SUR LES ASPECTS HISTOLOGIQUES OBSERVES

Il importe au terme de cette étude d'intégrer nos résultats dans le cadre des classifications établies jusqu'ici.

En 1963, YOUNG et coll. (71) insistaient sur le caractère univoque des structures tumorales microscopiques qui, dans la plupart des cas, s'apparentaient aux adénocarcinomes avec un degré de différenciation variant de rat à rat, de tumeur à tumeur, et dans une même tumeur de zone à zone : les auteurs opposent aux structures bien différenciées à activité mitotique modérée et à stroma pauvre, d'autres, moins différenciées. A côté de ces deux types on retrouvait des aspects de comédo-carcinome et de fréquentes associations (adénocarcinomes et carcinome malpighien en autres).

C H A P I T R E I V

DISCUSSION

Nous ferons porter notre discussion sur les modifications provoquées par l'Azathioprine, d'une part sur les aspects histologiques et d'autre part sur la dynamique tumorale.

I - SUR LES ASPECTS HISTOLOGIQUES OBSERVES

Il importe au terme de cette étude d'intégrer nos résultats dans le cadre des classifications établies jusqu'ici.

En 1963, YOUNG et coll. (71) insistaient sur le caractère univoque des structures tumorales microscopiques qui, dans la plupart des cas, s'apparentaient aux adénocarcinomes avec un degré de différenciation variant de rat à rat, de tumeur à tumeur, et dans une même tumeur de zone à zone : les auteurs opposent aux structures bien différenciées à activité mitotique modérée et à stroma pauvre, d'autres, moins différenciées. A côté de ces deux types on retrouvait des aspects de comédo-carcinome et de fréquentes associations (adénocarcinomes et carcinome malpighien en autres).

L'année suivante, DANIEL et PRICHARD (12) retiennent pour leur part, trois types de tumeurs mammaires induites par le DMBA - 135 tumeurs sont apparues chez 40 rats Sprague-Dawley ; dans 35 cas il s'agissait de lésions adénomateuses parfois compactes, provenant de l'étroite juxtaposition d'acini bordés de type papillaire - un autre groupe de 50 tumeurs apparentés aux adénomes, s'en différenciaient par le caractère sécrétant (présence de vacuoles intracytoplasmiques et d'un produit de sécrétion intraluminal prenant les colorants des graisses). Enfin, le troisième lot, réunissait 60 tumeurs, appartenant toutes aux fibro-adénomes et dérivés.

La classification de STEVENS et CURRIS (56), reprise par SCOTT et coll. (51) envisageait sous l'angle microscopique, trois groupes de tumeurs :

- Un groupe A, dans lequel rentraient les lésions malignes peu différenciées ;
- Un groupe B, émanation du précédent, et dans lequel les signes de différenciation se faisaient plus nombreux.
- Le groupe C, enfin recueillait toutes les tumeurs d'apparence bénigne unistratifiées, sans mitose ni monstruosité.

Il ressort des données fournies par STEVENS et par YOUNG que la majorité des tumeurs sont de nature adéno-carcinomateuses. A l'inverse, DANIEL, emploie à

dessein le terme d'adénome s'opposant en cela à nombres d'auteurs, pour qui le caractère malin de ces localisations tumorales ne faisait aucun doute (STERENTAL, DOMINGUEZ et coll. (1963), HUGGINS et coll. (31) (1961, YOUNG et coll. (1963).

Notre échantillonnage s'accommode mal du cadre défini par les auteurs précédemment cités : nous ne pouvons pas entièrement souscrire aux idées de DANIEL et collaborateurs, lorsqu'ils parlent d'adénomes : nous avons dans notre série de 6 % à 35 % de lésions incontestablement malignes, avec un certain nombre de métastases. Par ailleurs, la classification proposée par STEVENS, comme celle de YOUNG, basée sur une plus ou moins grande différenciation, obligerait à classer la même tumeur dans deux groupes, étant donné la juxtaposition très fréquente de plages dont la maturité tissulaire est différente ; c'est bien ce qui ressort également du travail de ARCHER et ORLANDO (2) (1968).

II - SUR LA DYNAMIQUE TUMORALE

Nous avons résumé dans le tableau n° 10 nos observations :

N O M B R E D E T U M E U R S					D A T E M O Y E N N E D ' A P P A R I T I O N D E S T U M E U R S									
	T U M E U R S M A M M A I R E S				CMDK***									
	TB	T.EHA**	TM	TOTAL		MET.								
<u>GROUPE VI</u> Pas de traitement	3	0	0	3	0									
<u>GROUPE V</u> Azathioprine seule	1	0	0	2	0									
<u>GROUPE II</u> DMBA seul	35 2,1*	19	33 1,7*	87 5*	4	2							151	188 227
<u>GROUPE I</u> Azathioprine avant DMBA	30 2,3*	2	7 0,6*	39 3*	0	11								
<u>GROUPE III</u> Azathioprine simultanément au DMBA	51 2,4*	8	4 0,3*	63 3*	2	8							229	250
<u>GROUPE IV</u> Azathioprine à l'apparition de la 1ère tumeur	56 2,6*	7	35 1,9*	98 6*	3	9							161	162 163

TABLEAU N° 10

* indique la valeur moyenne par animal
 ** tumeurs d'expression histologique ambiguë
 *** carcinomes malpighiens kératinisants

Il apparait de cette expérimentation qu'il n'y a pas de différence significative pour la date d'apparition, le nombre total ni la répartition histologique des tumeurs mammaires entre les groupes 1 et 3 qui ont reçu l'Azathioprine avant ou en même temps que le DMBA.

L'action de l'Azathioprine peut se résumer de la façon suivante par rapport au groupe recevant le carcinogène seul :

- 1.- Lorsque l'Azathioprine est donné avant ou en même temps que le DMBA et que ce traitement est poursuivi régulièrement, les tumeurs :
 - . apparaissent plus tardivement,
 - . sont moins nombreuses par animal,
 - . et sont plus rarement malignes.
- 2.- Lorsque l'Azathioprine est donné régulièrement à partir de l'apparition du premier nodule palpable, les tumeurs :
 - . diffusent plus rapidement (surtout à partir de la 4ème),
 - . sont en nombre discrètement supérieur par animal,
 - . sont aussi souvent malignes.

En ce qui concerne les métastases, aucune n'a été trouvée dans le groupe 1, mais dans le groupe 3 elles ont été plus nombreuses par rapport au nombre de tumeurs

malignes (66 % de métastases pulmonaires contre 22 % dans le groupe DMBA seul). Dans le groupe 4, la proportion reste identique à celle du groupe 2.

Un point qui nous a semblé important à retenir est que le nombre moyen de tumeurs bénignes par animal reste sensiblement constant dans tous les groupes traités par le carcinogène.

L'Azathioprine n'a donc d'effet que sur le nombre des tumeurs malignes ainsi que sur la diffusion métastatique.

Enfin l'Azathioprine favorise l'apparition de carcinomes malpighiens différenciés kératinisants aux dépens de la glande de Zymball.

L'interprétation de ces résultats peut se discuter selon trois niveaux d'action : hormonal, métabolique et immunologique.

L'hormono-dépendance des tumeurs mammaires induites par le DMBA est bien connue (31 - 32). Mais nous avons vérifié dans une expérimentation parallèle que l'Azathioprine n'avait pas d'effets hormonaux évidents. Des frottis vaginaux réalisés systématiquement chez des rats témoins traités par l'Azathioprine n'ont pas montré de modifications du cycle ovarien. Ces femelles ont pu avoir des portées d'un nombre normal. Enfin nous n'avons noté d'altérations histologiques des ovaires dans aucun groupe.

L'hypothèse d'une modification du métabolisme est à envisager. Avec du DMBA marqué au tritium on a pu montrer que le produit s'incorporait bien dans le tissu mammaire et dans la graisse péri-mammaire (20). WATTENBERG (65) a mis en évidence chez la souris qu'une augmentation du catabolisme du DMBA modifie l'efficacité de ce dernier. En particulier la bêta-naphtoflavone donnée quelques temps avant le carcinogène inhibe son action par stimulation du système enzymatique des hydroxylases des hydrocarbures polycycliques. En outre, des travaux récents ont porté sur des associations de carcinogènes. On a pu penser que l'utilisation du MCA pouvait augmenter le pouvoir carcinogène du DMBA. En fait il n'en a rien été si le MCA était donné suffisamment tôt avant le DMBA. Les tumeurs normalement provoquées par ce dernier ne se manifestaient pas.

Il faut en outre rappeler que le DMBA est responsable de deux types de tumeurs : malignes et bénignes. Nous n'avons pas actuellement la preuve que ce qui a été appelée tumeur d'expression histologique ambiguë soit un élément intermédiaire entre bénignité et malignité dans la dynamique tumorale. Il se peut en effet qu'il ne s'agisse là que du reflet d'une forme de tumeur maligne particulière aux animaux étudiés. Si cette dynamique tumorale allant de la tumeur bénigne à la tumeur maligne par l'intermédiaire des tumeurs d'expression histologique ambiguë se confirmait, on pourrait penser que l'Azathioprine, par son rôle d'antipurine, pourrait bloquer le métabolisme des cellules en voie de division rapide et empêcher le passage de la tumeur bénigne à la

tumeur maligne. Dans ces conditions, on pourrait comprendre que l'Azathioprine associée au DMBA soit avant soit en même temps que lui provoque la diminution du nombre global de tumeurs aux dépens des tumeurs malignes. Si par contre cette dynamique tumorale ne se confirmait pas et qu'il faille bien classer les tumeurs d'expression histologique ambiguë dans le groupe des tumeurs malignes, on peut se demander la raison pour laquelle le DMBA induit simultanément deux types de tumeurs aussi différentes : tumeurs malignes et tumeurs bénignes. Dans ce concept on pourrait admettre que le DMBA agit au niveau de la glande mammaire sur deux types de cellules : les unes en phase S (synthèse), les autres à tout autre stade de la vie cellulaire. Dans ce cas, l'Azathioprine, donnée avant le carcinogène ou en même temps que lui, et si son métabolisme est plus rapide, irait directement s'incorporer par son effet antipurine dans les cellules en phase de synthèse. Le carcinogène n'aurait plus qu'un seul type de cellules cibles, les autres ayant été bloquées par la chimiothérapie préalable : les cellules en phase S pourraient être considérées comme des cellules à "potentiel malin", les cellules au stade G_0 , G_1 , G_2 , etc... comme des cellules à "potentiel bénin". Dans ce système, l'influence de l'Azathioprine se ferait également sentir au niveau du nombre des tumeurs malignes.

L'hypothèse de l'immuno-dépression est également très importante puisque c'est dans ce cadre que nous avons mené notre étude. Il est frappant de noter que nos résultats diffèrent de ceux qui avaient été obtenus par l'action du SAL ou du SAT. Ces différences portent essentiellement sur les groupes où l'Azathioprine a été donnée avant l'apparition de la première tumeur. Les résultats concordent par contre lorsqu'elle est donnée à partir du moment où l'antigénicité tumorale existe : accélération dans la date d'apparition des tumeurs et augmentation du nombre des tumeurs malignes. Il semble donc que dans ce cas l'action de l'Azathioprine soit du type immuno-dépresseur. Cette action est liée à son pouvoir antimétabolique : en inhibant les cellules en voie de division, elle agit essentiellement au niveau des lymphocytes. Il s'ensuit une immuno-dépression de type chimio-induite.

En conclusion, si nous rappelons que l'Azathioprine est avant tout un antimétabolique du type antipurine, nous pouvons intégrer nos résultats de la façon suivante :

- lorsque l'Azathioprine est donné avant le carcinogène ou en même temps que lui, période où aucune tumeur n'existe et donc où il ne peut y avoir d'immuno-dépression dirigée contre un antigène tumoral, son rôle est essentiellement antimétabolique, agissant sur des cellules en voie de transformation maligne ou en phase de synthèse,
- par contre, lorsque la tumeur est apparue l'Azathioprine va jouer son rôle immuno-dépresseur.

Ce travail n'est qu'une partie d'une étude entreprise sur une plus grande dimension où devra être précisé le mode d'action des immuno-dépresseurs sur la tumorigénèse induite par des composés chimiques sur l'animal.

C H A P I T R E V

RESUME - CONCLUSIONS

Après étude de l'action de l'Azathioprine sur la carcinogénèse mammaire induite chez le rat femelle Sprague-Dawley par le 7-12 DMBA, on peut dire que ces effets par rapport à un groupe témoin sont différents selon le moment où elle est administrée.

Donnée initialement avant ou simultanément au carcinogène, puis ensuite de façon régulière, les tumeurs sont plus tardives, moins nombreuses par animal et plus rarement malignes. Donnée simultanément au carcinogène, elle favorise la diffusion métastatique de tumeurs pourtant moins fréquemment malignes. Donnée de façon régulière à partir de l'apparition de la première tumeur, les tumeurs diffusent plus rapidement, sont plus nombreuses par animal, bénignes ou malignes dans une proportion inchangée.

Ces effets variables, selon le moment d'administration, pourraient s'expliquer par deux modes d'action différents, compte tenu de ce que l'on sait du métabolisme cellulaire du DMBA et de l'antigénicité des tumeurs induites. Donnée initialement avant ou en même temps que le carcinogène, elle agirait comme un antimétabolique. Donnée à partir de l'apparition de la première tumeur, elle agirait comme un immuno-dépresseur sur le système antigénique spécifique et homologue des tumeurs.

La répartition des aspects histologiques des tumeurs mammaires ne permet pas de se satisfaire des classifications existantes. En outre, il existe pour l'ensemble des animaux un contingent non négligeable de tumeurs d'expression histologique ambiguë.

Enfin, l'Azathioprine favorise l'apparition de carcinomes malpighiens différenciés kératinisants de la glande de Zymball.

Vu, le Directeur
de l'U.E.R. Sud Ouest

F. TOLOT

Le Président de la Thèse
Professeur M. DARGENT

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 15 octobre 1971

Le Premier Vice-Président
de l'Université
Président du Comité de
Coordination Médicale :

R. TOURAINE

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ABELEV (G.I.)
Study of the antigenic structure of tumors.
Acta Un. Int. Cancer, 1963, 19, 80-92
- 2 - ALFRED (L.J.), DI PAOLO (J.A.)
Reversible inhibition of DNA synthesis in Hamster
embryo cells in culture : action of 1,2 benzanthracene
and 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1968, 28, 60-65
- 3 - ARCHER (F.L.), ORLANDO (R.A.)
Morphology, natural history and enzyme patterns in
mammary tumors of the rat induced by 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1968, 28, 217-224
- 4 - BALDWIN (R.W.), EMNLETON (M.J.)
Immunology of spontaneously arising rat mammary
adéno carcinomas - Brit. Empire Cancer Campaign Res. Lab. -
Univ. of Nottingham.
Int. J. Cancer, 1969, 4, 430-439
- 5 - BALDWIN (R.W.), EMBLETON (M.J.)
Detection and isolation of tumor - Specific Antigen
arising rat mammary carcinoma.
Cancer Campaign Res. Lab. - Univ. of Nottingham
Int. J. Cancer, 1970, 6, 373-383
- 6 - BALDWIN (R.W.) et coll.
Communication personnelle.
ler Congrès International d'Immunologie Washington, 1971

- 7 - BARONI (C.D.), BERTOLI (G.), PESANDO (P.), SCELSI (R.)
Delayed hypersensitivity in BALB/c and Charles River
Mice injected at birth with a single dose of 7-12 DMBA.
Experimenta, 1970, 26, 899
- 8 - BRIZIARELLI
Effects of Hormonal pre-treatment against the induction
of mammary tumors by 7-12 DMBA in rats, Z. Krebsforsch.
Z. Krebsforsch, 1966, 68, 217-223
- 9 - BROOKES (P.), HEIDELBERGER (C.)
Isolation and degradation of DNA from cells treated
with tritium labeled 7-12 DMBA : studies on the nature
of the binding of this carcinogen to DNA.
Cancer Res., 1969, 29, 157-165
- 10 - CAWEIN (M.J.), SYDNOR (K.L.)
Suppression of cellular activity in the reticuloendothelial
system of the rat by 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1968, 28, 320-327
- 11 - DANIEL (P.M.), PRICHARD (M.M.L.)
Further studies on mammary tumors induced in rats by
7-12 Dimethylbenz (A) anthracene (DMBA).
Int. J. Cancer, 1967, 2, 163-178
- 12 - DANIEL (P.M.), PRICHARD (M.M.L.)
Three types of mammary tumors induced in rats by
freeding with DMBA.
Brit. J. Cancer, 1964, 18, 513-520
- 13 - DARGENT (M.), BOURGOIN (J.J.), NOEL (P.) WEISSBROD (R.)
Influence de l'exérèse chirurgicale sur la diffusion
des tumeurs mammaires induites chez le rat par le
7-12 Dimethylbenz (A) anthracène.
Bul. du Cancer, 1969, IV, 411-426

- 14 - DIAMOND (L.), DEFENDI (V.), BROOKES (P.)
The interaction of 7-12 DMBA with cells sensitive
and resistant to toxicity induced by this carcinogen.
Cancer Res., 1967, 27, 890-897
- 15 - DOAK (P.B.), MONTGOMERIE (J.Z.), NORHT (J.D.), SMITH (F.)
Réticulo-sarcome après greffe du rein et traitement
par Azathioprine et prednisone.
Brit. med. J., 1968, 4, 746-748
- 16 - DORMONT (J.)
La chimiothérapie immunodépressive.
Cahiers Médicaux Lyon., 1971
- 17 - FARE (G.)
Carcinogen wirkung.
Brit. J. Cancer, 1964, 18, 766
- 18 - FISHER (B.), SOLIMAN (O.), FISHER (E.R.)
Further Observations concerning effects of antilymphocyte
serum on tumor growth with special reference to allo-
geneic inhibition.
Cancer Res., 1970, 30, 7, 2035
- 19 - FLAKS (A.)
Observation of the action of the thymus on the induction
of lung tumours by 9-10 Dimethyl 1,2 Benzanthracen in
new born A. mice
Brit. J. Cancer, 1967, II, 390-393
- 20 - FLESHER (J.W.)
Distribution of radio-activity in the tissues of rats
after oral administration of 7-12 Dimethylbenz (A)
anthracen - H₃
Biochem. Pharm., 1967, IX, 1821-1931

- 21 - FLOERSHEIM (G.L.)
A comparative study of the effects of anti-tumor and immuno-suppressive drugs on antibody-forming and erythropoietic cells.
Clinical and Experimental Immunology, 1970, 6, 6, 861
- 22 - GAMMAL (E.B.), CARROLL (K.K.), PLUNKETT (E.R.)
Effects of dietary fat on mammary carcinogenesis by 7-12 DMBA in rats.
Cancer Res., 1967, 27, 1737-1742
- 23 - GAMMAL (E.B.), CARROLL (K.K.), PLUNKETT (E.R.)
Effects of dietary fat on the uptake and clearance of 7-12 DMBA by rat mammary tissue.
Cancer Res., 1968, 28, 384-385
- 24 - HAMILTON (T.), SNEDDON (A.)
Endocrine differences between rats bearing simple and malignant mammary tumors induced by 9-10 Dimethyl 1-2-benzanthracene.
Brit. J. Cancer, 1968, 22, 324-329
- 25 - HAYASE SHISA, YASVAKI NISHIZVKA
Unilateral development of ovarian tumor in thymectomized swiss mice following a single ingestion of 7-12 DMBA at neonatal stage.
Brit. J. Cancer, 1968, I, 70-76
- 26 - HEIMANN (R.), HEUSON (J.C.), COUNE (A.)
Tumors developing in oophorectomized Sprague-Dawley rats after a single gastric instillation of 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1968, 28, 309-313

- 27 - HILF (R.), GOLDENBERG (H.), MICHEL (I.), JOYCE (M.),
CARRINGTON, BELL (C.), GRUENSTEIN (M.), MERANCE (D.R.),
SHIMKIN (M.S.)
Biochemical characteristics of mammary glands and
mammary tumors of rats induced by 3 methylcholanthrene
and 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1969, 29, 977-988
- 28 - HILF (R.), SEGALOFF (A.), LERNER (L.J.)
Influence of hormonal treatment of fisher rats on
the biochemistry of a transplan table dimethylbenz (A)
anthracene induced mammary carcinoma and its sublimes.
Cancer Res., 1968, 28, 1550-1558
- 29 - HIPKIN (L.J.)
The lack of effect of 7-12 DMBA on the endocrine
function of the gonads.
Cancer Res., 1966, 26, 89-91
- 30 - HITCHINGS (G.H.), ELION (G.B.)
The role of antimetabolites in immuno-suppression and
transplantation.
Accounts Chem. Res. U.S.A., 1969, 2, 7, 202-209
- 31 - HUGGINS (C.), BRIZIARARELLI (C.) and all
Rapid induction of mammary carcinoma in the rat and
the influence of hormones on the tumours.
J. Exp. Med., 1959, CIX, Abstr.
- 32 - HUGGINS (C.), GRAND (C.C.) and all
Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear
hydrocarbons and its suppression.
Nature, 1961, 189, 204-207
- 33 - HUGGINS (C.B.), GRAND (L.)
Neoplasms evoked in male Sprague-Dawley rat by pulse
doses of 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1966, 26, 2255-2258

- 34 - IGEL (H.J.), HUEBNER (R.J.), TURNER (H.C.), KOTIN (P.),
FALK (H.L.), (Children's Hosp. Akron, Ohio, U.S.A.)
Mousse leukemia activation by chemical carcinogens.
Science U.S.A., 1969, 166, 3913, 1624-1629
- 35 - JULL (J.W.), PHILIPPS (A.J.)
The effects of 7-12 DMBA on the ovarian response of
mice and rats by gonadotrophins.
Cancer Res., 1969, 29, 1977-1988
- 36 - KELLEN (J.A.), ANDERSON (K.M.)
The antigenicity of rat mammary tumors induced by
7-12 DMBA.
Oncology, 1971, 25, 49-54
- 37 - KLAIBER (M.S.), GRUENSTEIN (M.), MERANZE (D.R.),
SHIMKIN (M.B.)
Influence of Hypothalamic lesions on the induction
and growth of mammary cancers in Sprague-Dawley rats
receiving 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1969, 29, 999-1001
- 38 - KLEIN (G.)
Tumor Specific Transplantation Antigens.
Cancer Res., 1968, 28, 625-635
- 39 - KLEIN (G.), SJÖGREN (M.O.), KLEIN (E.), HELLSTRÖM (K.E.)
Demonstration of resistance against methylcholantrène
induced sarcomas in the primary autochthonous host.
Cancer Res., 1960, 20, 1561-1570
- 40 - KOVACS (K.), SOMOGYI (A.)
Die endokrine Beeinflussung der Verkalkung der durch
7-12 DMBA hervorgerufenen Milch Drusentumoren bei Ratten.
Z. Krebsforsch., 1969, 73, 193-194

- 41 - KRARUP (T.)
Effect of 9-10 Dimethyl-1,2 benzanthrane on the
mouse ovary. Ovarian tumorigenesis.
Brit. Jour. of cancer, 1970, XXIV, 1, 168-186
- 42 - LEVIN (W.), CONNEY (A.H.)
Stimulatory effect of polycyclic hydrocarbons and aromatic
azo derivatives on the metabolism of 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1967, 27, 1931-1938
- 43 - MAC CORMICK (G.M.), MOON (R.C.)
Hormones influencing postpartum growth of 7-12 DMBA
induced rat mammary tumors.
Cancer Res., 1967, 27, 626-631
- 44 - MATHE et coll.
Communication personnelle.
XIème Congrès International de Thérapeutique, 1969
- 45 - MEISELS (A.)
Effects of sex hormones on the carcinogenic action
of DMBA on the uterus of intact and castrated mice.
Cancer Res., 1966, 26, 757-764
- 46 - MIHICH (E.)
Synergism between chemotherapy and immunity in the
treatment of experimental tumors.
Vth Internat. Cong. Chemotherapy Vienne - III Proceedings
Vienna Wiener Med. Akad., 1967, 327-331
- 47 - NAMOTO et coll.
Communication personnelle.
8th Intern. Cancer Congress HOUSTON, 1970

- 48 - NISHIZUKA (Y.), SHISA (H.)
Enhancement of 7-12 DMBA leukaemogenesis in mice
by neonatal injection of cortisone acetate.
Brit. J. Cancer, 1968, 22, 290-295
- 49 - PEN (I.), HAMMOND (W.), BRETTSCHEIDER (L.), STARZL (T.E.)
Malignant lymphomas in transplantation patients.
Proc. 2nd int. Congr. Transpl. Soc., 1968, NEW-YORK
- 50 - SCHMIDT (F.A.), ELMER (I.), TARNOWSKI (G.S.)
Genetic determination of differential inflammatory
reactivity and subcutaneous tumor. Susceptibility of
AKR/J and C57BL/6J mice to 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1969, 29, 1585-1589
- 51 - SCOTT (C.B.), CHRISTIAN (H.J.), CURRIE (A.R.)
The Huggins rat mammary tumors : cellular changes
associated with regression in Endogenous factors
influencing host tumor balance.
Univ. of Chicago Press, 1967, 99-113
- 52 - SHIMKIN (M.B.), GRUENSTEIN (M.), MERANZE (D.R.),
ACUFF (M.), THATCHER (D.)
The effects of shedule and dose of 7-12 DMBA on
the induction and growth of mammary carcinomas in
Sprague-Dawley female rats.
Cancer Res., 1969, 29, 503-505
- 53 - SHIMKIN (M.B.), GRUENSTEIN (M.), THATCHER (D.),
BASERGA (R.)
Tritialed thymidine labeling of cells in rats following
exposure to 7-12 DMBA.
Cancer Res., 1967, 27, 1494-1495
- 54 - SHISA (H.), NISHIZUKA (Y.)
Unilateral development of ovarian tumour in thymectomized
swiss mice following a single injection of 7-12 DMBA at
neonatal stage.
Brit. J. Cancer, 1968, 22, 70-76

- 55 - STERENTAL (A.), DOMINGUEZ (J.M.) et al.
Pituitary role in the estrogen dependance of
experimental mammary cancer.
Cancer Res., 1963, 23, 481-484
- 56 - STEVENS (L.), STEVENS (E.) et al.
Histological studies and measurement of nucleic acid
synthesis in rat mammary tumors induced by 9-10 dimethyl I.
A. Benzanthrane.
J. Path. Bact., 1965, 89, 581-589
- 57 - STORTI (E.), TRALDI (A.), QUAGLINO (D.)
Clinical studies on the effect of Imuran and Vincristine
in the treatment of leukemia.
Ist. di Patol. Med. Univ. di MODENA, 17/1 (209)
- 58 - TELLER (M.N.), KAUFMAN (R.J.), BOWIE (M.), STOCK (C.C.)
Influence of estrogens and endocrine ablation on
duration of remission produced by ovariectomy or
androgen treatment of 7-12 DMBA induced rat mammary
tumors.
Cancer Res., 1969, 29, 349-352
- 59 - TELLER (M.N.), STOCK (C.C.), BOWIE (M.)
Effects of 17a-Thioestradiol, 2 Oestradiol analogs, and
2 androgens on 7-12 DMBA induced rat mammary tumors.
Cancer Res., 1966, 26, 2329-2333
- 60 - TELLER (M.N.), STOCK (C.C.), STOHR (G.), MERLER (P.C.),
KAUFMAN (R.J.), ESCHER (G.C.), BOWIE (M.)
Biologic characteristics and chemotherapy of 7-12
DMBA induced tumors in rats.
Cancer Res., 1966, 26, 245-252

- 61 - TOTH (B.)
The induction of malignant lymphomas and other tumors
by 7-12 DMBA in the syrian golden hamster.
Cancer Res., 1969, 29, 1476-1484
- 62 - VAN DUUREN (B.L.), SIVAK (A.), KATZ (C.), MELCHIONNE (S.)
Inhibition of tumor induction in two stage carcinogenesis
on mouse skin.
Cancer Res., 1969, 29, 4, 947-952
- 63 - VIGIER Philippe
RNA Oncogenic Viruses : structure, replication and
oncogenicity.
Progress in medical virology, 1970, 12, 240
- 64 - WAGNER et coll.
Communication personnelle.
Xth Intern. Cancer Congress. Houston, 1970
- 65 - WATTENBERG (L.W.) and LEONG (J.L.)
Inhibition of the carcinogenic action of 7-12 dimethylbenz
(A)anthracene by beta-naphthoflavone.
Proc. soc. exp. Biol. Med. (N.Y.), 1968, 128, 4, 940-943
- 66 - WATTENBERT (L.W.), LEONG (J.L.)
Inhibition of the carcinogenic action of benzo(a)pyrene
by flavones.
Cancer Res., 1970, 30, 7, 1922
- 67 - WHEATLEY
Enhancement and inhibition of the induction by 7-12 DMBA
of mammary tumors in female Sprague-Dawley rats.
Brit. J. Cancer, 1968, 22, 787-797

- 68 - WHEATLEY (D.N.)
Prevention of the adrenocorticolytic action of
7-12 DMBA an 7-Hydroxymethyl-12-methylbenz(A)
anthracene by beta-diethylaminoethyl-diphenyl-n-
propyl-acetate (SKF 525-A)
Brit. J. Exper. Pathol., 1968, I, 44-51
- 69 - WHEATLEY (D.N.), INGLIS (M.S.)
Mammary tumors induced in Sprague-Dawley female
rats by 7-12 DMBA and its hydromethyl derivaties.
Brit. J. Cancer, 1968, 22, 122-127
- 70 - WYLIE (J.V.)
The role of the lymphocyte in the immunological
response to tumors. Scientific report of the
Institut of Cancer Research.
College for Physicians and Surgeons, Columbia Univ.
1967-1968, 99-101
- 71 - YOUNG (S.), COWAN (D.M.) et al.
The histology of induced mammary tumors in rats.
J. Path. Bact., 1963, 85, 331-340

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I - HISTORIQUE	3
CHAPITRE II - MATERIEL ET METHODES	11
CHAPITRE III - RESULTATS	15
CHAPITRE IV - DISCUSSION	31
CHAPITRE V - RESUME - CONCLUSIONS	41
BIBLIOGRAPHIE	43

